

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1931

N°

248

THÈSE
POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Alfred-Marcel MILHAUD

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Ancien Élève de l'Institut Pasteur

Né le 27 Mars 1905 à Perpignan (Pyrénées-Orientales)

L'IMMUNITÉ
et les
TRAITEMENTS BIOLOGIQUES
du
CHANCRE MOU

Président : M. GOUGEROT, professeur

PARIS
LIBRAIRIE LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

1931



THÈSE
POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Alfred-Marcel MILHAUD

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Ancien Élève de l'Institut Pasteur

Né le 27 Mars 1905 à Perpignan (Pyrénées-Orientales)

L'IMMUNITÉ
et les
TRAITEMENTS BIOLOGIQUES
du
CHANCRE MOU

Président : M. GOUGEROT, professeur

PARIS
LIBRAIRIE LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

1931

I. — PROFESSEURS

Le Doyen..... M. BALTHAZARD

MM.

Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	GRÉGOIRE
Physiologie	ROGER.
Physique médicale.....	STROHL.
Chimie médicale.....	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales....	BAUDOUIN.
Pathologie médicale.....	CLERC.
Pathologie chirurgicale.....	LENORMANT
Anatomie pathologique.....	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.....	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LEPER.
Hygiène et Médecine préventive.....	TANON.
Médecine légale.....	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	MENETRIER.
Pathologie expérimentale et comparée....	RATHERY.
Hydrologie thérapeutique et climatologie..	MAURICE VILLARET
	CARNOT.
Clinique médicale.....	BEZANÇON.
	ACHARD.
	MARCEL LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants.....	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.....	
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	H. CLAUDE.
Clinique des maladies du système nerveux	GOUGEROT.
Clinique des maladies infectieuses.....	GUILLAIN.
	TEISSIER.
	DELBET.
Clinique chirurgicale.....	CUNEO.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique.....	TERRIEN.
Clinique urologique.....	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements.....	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologie.....	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	
Clinique thérapeutique médicale.....	OMBREDANNE.
Clinique oto-rhino-laryngologique.....	VAQUEZ.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	SEBILEAU.
Clinique propédeutique.....	PIERRE DUVAL.
Clinique de la Tuberculose.....	SERGENT.
Professeur sans chaire.....	LÉON BERNARD.
	MAUCLAIRE.



II. — AGREGÉS EN EXERCICE

MM.

Neurologie et Psychiâtrie.....	ALAJOUANINE.
Pathologie médicale.....	AUBERTIN.
Pathologie médicale.....	BÉNARD HENRI.
Physiologie.....	BINET.
Chimie biologique.....	BLANCHETIERE.
Pathologie chirurgicale.....	BROCC.
Pathologie médicale.....	BRULE.
Pathologie chirurgicale.....	CADENAT.
Pathologie médicale.....	CATHALA.
Pathologie médicale.....	CHABROL.
Pathologie médicale.....	CHEVALLIER.
Pathologie chirurgicale.....	DE GAUDART D'ALLAINES
Physique.....	DOGNON.
Pathologie médicale.....	DONZELOT.
Obstétrique.....	ECALLE.
Urologie.....	FEY.
Pathologie expérimentale.....	GARNIER.
Bactériologie.....	GASTINEL.
Pathologie chirurgicale.....	GATELLIER.
Histologie.....	GIROUD.
Pathologie médicale.....	HARVIER.
Anatomie.....	HOVELACQUE.
Pathologie médicale.....	HUTINEL.
Hygiène.....	JOANNON.
Chimie biologique.....	LABBÉ HENRI.
Parasitologie.....	JOYEUX.
Pathologie médicale.....	LAROCHE GUY.
Oto-rhino-laryngologie.....	LEMAITRE.
Anatomie Pathologique.....	LEROUX.
Pathologie chirurgicale.....	LEVEUF.
Neuro-psychiâtrie.....	LEVY-VALENSI.
Pathologie médicale.....	LIAN.
Pharmacologie.....	MERCIER FERNAND.
Histologie.....	MILLOT.
Pathologie chirurgicale.....	MONDOR.
Pathologie médicale.....	MOREAU.
Pathologie chirurgicale.....	MOULONGUET.
Pathologie chirurgicale.....	MOURE.
Histologie.....	VIGNE.
Anatomie Pathologique.....	MULON.
Anatomie.....	OBERLING.
Médecine légale.....	OLIVIER.
Obstétrique.....	PIEDELIEVRE.
Pathologie chirurgicale.....	PORTES.
Physiologie.....	QUÉNU.
Dermatologie et syphiligraphie.....	RICHTÉ Fils.
Pathologie médicale.....	SÉZARY.
	VALLÉRY-RADOT.
Obstétrique.....	(Pasteur)
Ophtalmologie.....	VAUDESCAL.
Histologie.....	VELTER.
Obstétrique.....	VERNE.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

	MM.
Pharmacologie	BUSQUET.
Obstétrique	GUENIOT.
	LEQUEUX.
Parasitologie	NEVEU-LEMAIRE.
Physique	ZIMMERN.
Histologie	RETTERRER.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

(ANNEXE)

A TITRE PERMANENT

	MM.
Clinique médicale	ABRAMI.
Clinique médicale	CHIRAY.
Clinique médicale	DEBRÉ.
Clinique médicale	DUVOIR.
Clinique médicale	FIESSINGER.
Clinique chirurgicale	HEITZ-BOYER.
Clinique médicale	LAIGNEL-LAVASTINE.
Clinique médicale	LÉRI.
Clinique chirurgicale	AUVRAY.
Clinique chirurgicale	BASSET.
Clinique chirurgicale	CHEVASSU.
Clinique chirurgicale	MATHIEU.
Clinique chirurgicale	MOCQUOT.
Clinique chirurgicale	PROUST.
Clinique chirurgicale	SCHWARTZ.
Clinique chirurgicale	LE LORIER.
Clinique chirurgicale	LEVY-SOLAL.
Clinique obstétricale	METZGER.

V. — CHARGÉS DE COURS

	MM.
Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes	MAUCLAIRE, pro- fesseur sans chaire.
Stomatologie	FREY.
Education physique	CHAILLEY-BERT.
Radiologie clinique	LEDoux-LEBARD.
Puériculture	WEILL-HALLÉ.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA FEMME

A MON PERE ET A MA MERE

AU PERE ET A LA MERE (*in memoriam*)
DE MA FEMME

A MES SŒURS,

A TOUS LES MIENS

A MON ONCLE LE PROFESSEUR MOSSE

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GOUGEROT

*Professeur de clinique des maladies cutanées
et syphilitiques*

Médecin de l'Hôpital Saint-Louis

*qui a bien voulu nous faire le
grand honneur d'accepter la
présidence de notre thèse.*

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

M. le Professeur GILBERT (*in memoriam*)

M. le Professeur ALGLAVE

M. le Professeur RIBIERRE (*in memoriam*)

M. le Professeur LAIGNEL-LAVASTINE

M. le Docteur DEVRAIGNE

M. le Docteur VEAU

M. le Docteur WEILL HALLE

*Mon dernier maître, et qu'il
veuille trouver ici le témoi-
gnage de toute la gratitude
que je lui porte pour sa bien-
veillance.*

A MES MAITRES
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE LA SORBONNE
ET DE L'INSTITUT PASTEUR

*Auprès desquels se fait mon
éducation de biologiste.*

AVANT PROPOS

Le terme d'immunité s'applique à deux processus. D'une part il s'applique à l'immunité curative, d'autre part à l'immunité préventive. Or dans la plus ou moins grande réceptivité ou dans la plus ou moins grande résistance de nos tissus il peut entrer des facteurs auxquels nous n'avons pas à nous intéresser dans l'immunité curative.

Ici nous devrions d'abord envisager l'action éventuelle du tréponème sur la plus ou moins grande réceptivité des tissus vis-à-vis du chancre mou.

Le chancre mixte pose en effet aux microbiologistes un problème de pathogénie. Si l'association du b. Ducrey et du tréponème n'était qu'une coïncidence, sa fréquence serait du même ordre que celle de l'association chancre mou blennorragie, ou blennorragie syphilis. On sait qu'il s'agit d'une association beaucoup plus banale et que l'on a longtemps décrit le chancre mou comme un mode de début de la syphilis.

Théoriquement on comprend difficilement comment le tréponème favoriserait l'éclosion du chancre

mou dans les deux ou trois jours qui suivent le contagage. Il faudrait lui attribuer une action locale très précoce dont nous n'avons encore aucune idée. On ne comprend pas mieux comment le chancre mou favoriserait l'éclosion du chancre syphilitique puisqu'on sait aujourd'hui de la pénétration du tréponème est presque immédiate.

Nous avons pensé pour étudier cette question à expérimenter sur un singe que M. Levaditi nous accordait au mois de Novembre. Mais à la réflexion une seule expérience ou même un petit nombre d'expériences de cet ordre paraissait sans valeur. Il fallait expérimenter sur un grand nombre de singes. Sur leur peau saine ou érodée, on déposerait la sérosité de chancre mixte. On remarquerait s'ils contractent plus souvent un chancre b. Ducrey que ceux sur la peau desquels on déposerait seulement le pus chancrelleux, et s'ils contractent plus souvent la syphilis qu'avec une évulsion virulente de tréponèmes sans b. Ducrey. Ces expériences dont les conclusions dépendaient de la fréquence relative des contaminations selon les cas envisagés nécessitaient un grand nombre de singes. Elles nécessitaient aussi un grand nombre de malades présentant au même moment du b. Ducrey et du tréponème visibles. Pour ces raisons elles étaient impraticables.

D'ailleurs nous étions en présence d'un dilemme. Ou l'un des microbes favorise la pénétration de l'autre chez le sujet infecté, ou bien un microbe favorise la contagiosité de l'autre chez le sujet infectant.

Or, les deux hypothèses énoncées plus haut sont à discuter dans la première alternative. Mais dans la deuxième on voit une troisième hypothèse qui ne présente aucune difficulté théorique. En effet, il est certain *a priori* que la syphilis est extrêmement répandue chez les femmes qui donnent le chancre mou. D'autre part, nous connaissons des exemples d'appels de tréponèmes au niveau d'une lésion. Il est donc vraisemblable qu'au niveau du chancre mou il se produise un appel de tréponèmes de telle sorte que la malade devienne susceptible de donner des chancres mixtes.

L'expérimentation était facile. On pouvait inoculer à un singe du tréponème par voie intraveineuse et de b. Ducrey par voie sous-cutanée, puis chercher si au niveau du chancre mou il y aurait appel de tréponèmes. Une seule expérience positive était déjà d'un certain poids. Nous avons proposé cette recherche à M. Levaditi. Celui-ci l'a accepté en principe, mais a ajouté qu'il convenait de répéter l'expérience sur plusieurs singes et que c'était là un travail de très longue durée. Nous avons dû renoncer à faire entrer dans notre thèse des travaux qui paraissaient être d'une durée indéterminée. Nous avons cru devoir les remettre à un peu plus tard.

En résumé, il est possible que le tréponème favorise la pénétration du b. Ducrey dans l'organisme, mais rien ne nous permet d'affirmer qu'il en soit ainsi, ni même de considérer cette action comme très probable. Ce n'est pas là une hypothèse logiquement nécessaire, il y en a d'autres possibles.

Une autre influence à envisager de la plus ou moins grande réceptivité au chancre mou serait peut-être celle du sexe.

En 1930, dans le service de M. Gougerot, ont été pour chancre mou, 324 hommes et 24 femmes. Dans les Annales de Dermatologie et Syphiligraphie de juin 1930, M. W. Cotts, chef de clinique des maladies vénériennes à l'Université du Chili, publia un article où il note qu'il y a à Santiago une femme atteinte pour 13,5 hommes. Il indique d'autres statistiques américaines qui donnent des résultats analogues. Une telle disproportion ne serait pas étonnante dans une autre maladie vénérienne, car une prostituée atteinte de syphilis ou de blennorrhagie peut contaminer un grand nombre d'hommes. Mais une femme chez laquelle un chancre mou est installé est à peu près incapable de rapports, estime-t-il. Aussi M. Cotts croit-il que dans bien des cas une femme doit être porteuse de germes non virulents pour elle et qui recouvreraient leur virulence dans le milieu génital masculin.

Les sujets porteurs de germes sans chancres sont d'ailleurs connus. L'originalité de M. Cotts est de considérer qu'ils doivent appartenir souvent au sexe féminin et être contagieux. Si la femme présente une certaine immunité, c'est seulement une immunité locale. D'après Pertersen, il y a 0,3 % de chancres mous extra-génitaux chez l'homme, et 13 % de chancres mous extra-génitaux chez la femme. De la sorte, les chancres mous extra-génitaux seraient plus fréquents

chez la femme que chez l'homme, même en nombre absolu.

Nous ne pouvons insister sur des faits de cet ordre, nous avons voulu seulement les mentionner pour indiquer à quel point l'étude complète de l'immunité ou de la réceptivité au chancre mou pouvait nous amener loin si nous ne nous étions limité à l'étude des différents traitements biologiques possibles.

INTRODUCTION

Le présent travail comprend deux parties.

Dans la première nous faisons une revue générale, analytique et critique des divers traitements biologiques employés jusqu'ici contre le chancre mou.

Dans la deuxième nous étudions la possibilité d'employer contre le chancre mou le dernier venu des traitements biologiques : l'emploi d'un bactériophage et relatons les tentatives faites par d'autres et par nous-même pour réaliser celui-ci.

Parmi les divers traitements biologiques employés, certains, comme la serothérapie et la vaccinothérapie dans la mesure où elles prétendent à être spécifiques, ou comme la vaccination préventive qui a été tentée, supposent que les anticorps produits sous l'influence du b. de Ducrey, aient une certaine valeur protectrice pour l'organisme. On leur oppose souvent un scepticisme *a priori* basé sur ce fait que l'organisme semble incapable de s'immuniser, même très peu de temps, contre le chancre mou, qui est indéfiniment réinoculable. Délaissant cette objection *a priori*, d'un poids

pourtant considérable et que nous devons signaler ici une fois pour toutes, nous nous sommes contentés d'exposer les faits relatés à ce sujet et de les discuter aussi objectivement que possible.

C'est cette même attitude objective que nous avons essayé d'apporter dans tous nos exposés, y compris dans celui de nos propres expériences.

CHAPITRE PREMIER

GENERALITES SUR LE B. DE DUCREY

Le rôle du b. Ducrey dans le chancre mou a été établi par Ducrey, Unna, Nicolle, Morax, etc... On le trouve dans le chancre mêlé à beaucoup d'autres microbes. Ravaud, Le Sourd, Morax, Nicolle conseillent de le chercher dans la pulpe du fond de l'ulcère. Il se présente sous forme de diplo cocco bacille, c'est-à-dire de microbes ovoïdes dont les extrémités seulement sont colorées. Ces diplo cocco bacilles se trouvent dans le pus, isolés, groupés par deux, et en chaînettes.

La culture de ce bacille à partir du pus chancrelleux n'a été réalisée que longtemps après la découverte du microbe. Petersen la réalisa en 1897 sur gelose-sérum sans pouvoir continuer les passages. Istamanox la refit en 1897, et Lenglet en 1898, l'un et l'autre employant des milieux macérés de peau humaine. Enfin, Besançon, Griffon et Le Sourd employèrent, en 1901, la gelose au sang de lapin, encore utilisée aujour-

d'hui. Himmel, à la même époque, employa le coagulum du sang de cobaye.

Le b. Ducrey, en effet, appartient au groupe des bactéries hémoglobino-philés. Ce sont des bactéries courtes, ovoïdes, d'un aspect très souvent intermédiaire entre celui d'un coccus et celui d'une bactérie, d'où leur nom de coccobacilles. Toutes sont immobiles, Gram négatif et demandent pour être colorées une action un peu prolongée de Ziehl. Toutes présentent alors une coloration bipolaire, c'est-à-dire que les deux pôles seulement du coccobacille sont colorés. Toutes demandent à être cultivées sur milieu au sang, le sang pouvant être remplacé par l'extrait globulaire que l'on fabrique et que l'on vend actuellement à l'Institut Pasteur. Certains d'entre eux, comme le diplobacille de Morax ou le bacille de Bordet-Gengoux, peuvent cependant après plusieurs passages, cultiver sur milieux ordinaires, mais le b. Ducrey est plus rigoureusement hémoglobino-philé.

Sa culture est possible entre 25 et 38°, mais sa température optima est 32°. Il se caractérise par rapport aux autres bactéries hémoglobino-philés par sa disposition en chaînettes. C'est surtout sur le liquide de condensation des tubes de gelose de sang que l'on est frappé par ces chaînettes dont la longueur devient considérable. La culture obtenue, sa conservation est assez facile. Elle garde sa vitalité plusieurs semaines à l'étuve à 32° et un peu plus longtemps à la température du laboratoire.

Il n'est pas très difficile de cultiver le b. Ducrey à partir d'une souche déjà existante. A partir du pus chancrelleux, c'est une entreprise très difficile dont il n'est pas exagéré de dire que le succès est exceptionnel. Reenstierna conseille de laver le chancre, de relever à la curette dans le fond, d'ensemencer sur milieu au sang défibriné et de prélever après deux à trois heures à 37° dans l'eau de condensation. Personnellement, il réussit dans les trois-quarts des cas. On voit que le pourcentage d'insuccès est assez élevé, même entre les mains d'un bactériologiste qui s'est fait une spécialité du b. Ducrey. Nicolau et Banciu lavent le chancre à la teinture d'iode et le recouvrent de colloïdion 24 heures avant de prélever.

L'aspect macroscopique des cultures du bacille de Ducrey est peu caractéristique. Sur gelose au sang on a de petites colonies sèches qui glissent sur le milieu. En bouillon au sang ils donnent une culture en flocons avec formation d'un voile après trois jours d'étuve. Le lait est quelquefois coagulé. La mannite, le glucose, le lévulose, le maltose et le saccharose fermentent sous son action.

Le chancre mou est inoculable seulement à l'homme et au singe. Nicole, Thiebierge, Ravaut, Le Sourd, etc..., l'ont inoculé avec succès à diverses espèces de singes. Pour les autres animaux, le b. de Ducrey n'est pas pyogène. Le cobaye comme le singe peut être tué par inoculation intra-cardiaque (Reenstierna) sans que l'on trouve de microbes dans ses organes. Himel

dit avoir pu tuer des cobayes par inoculations intrapéritonéales de quatre gouttes d'acide lactique et d'une culture de *b. Ducrey*. En pratique, il n'est pas possible d'utiliser l'inoculation pour identifier le *b. Ducrey*. Le seul procédé de cette nature que l'on emploie quelquefois est l'inoculation au malade lui-même sous la peau, en un point éloigné du chancre. C'est un procédé qui, bien entendu, ne doit être employé qu'avec prudence.

Le chancre mou n'immunise pas. Il peut récidiver indéfiniment chez le même malade. Il produit cependant des modifications générales dans l'organisme. De ces modifications témoignent des réactions de déviation du complément pour laquelle ont été proposés divers antigènes straptobacillaires. Cette réaction qui n'est pas encore entrée dans la pratique peut se trouver positive plusieurs années après un chancre. De ces modifications générales témoigne aussi l'intradermoréaction. Celle-ci fut inaugurée par Ito en 1913 et étudiée à nouveau par Reenstierna. On prépare pour cette réaction une suspension homogène correspondant à 450 millions de corps microbiens par cc. On inocule cette suspension dans le derme et on observe 48 heures après. Reenstierna nous rapporte que sur 173 chancrelleux il a eu 170 résultats positifs. Sur 27 sujets à chancres antérieurs guéris dont un datant de 10 ans, il a eu 23 résultats positifs. Sur 249 sujets sans antécédents chancrelleux connus (pour quelques d'entre eux, il y avait un doute possible), il n'a eu que

5 résultats positifs. Il s'agit donc d'une réaction spécifique. Elle est précoce, apparaissant le huitième jour du chancre, s'intensifie quand le chancre a déjà évolué et quand il s'est compliqué de bubon, et peut persister plusieurs années.

CHAPITRE II

IMMUNISATION GENERALE

Jusqu'à la découverte du bactériophage, les traitements biologiques que l'on pouvait appliquer à une maladie infectieuse ont consisté uniquement à utiliser le pouvoir antigénique du microbe que l'on voulait combattre et les anticorps qu'il faisait apparaître. Ces traitements biologiques se sont laissés ranger sous deux rubriques. On a parlé de vaccinothérapie dans les cas où l'on faisait apparaître les anticorps chez le malade lui-même, et de sérothérapie dans les cas où on apportait aux malades les anticorps apparus chez un animal.

Les deux procédés que nous venons de citer ont été appliqués au chancre mou. Avant de discuter les données expérimentales qui leur servent de base, nous devons résumer sommairement les principaux résultats acquis aujourd'hui dans la connaissance des antigènes et des anticorps.

I. — Toutes les substances protéiques sont antigènes, à condition de contenir des aminoacides aromatiques et à condition aussi d'être en suspension colloïdale, car elles perdent leurs propriétés une fois coagulées. On est mal fixé sur la valeur antigène de leurs produits de désintégration. Les extraits d'organes ou de microorganismes paraissent *a priori* des antigènes, tantôt spécifiques de l'organe (cristallin, par exemple), tantôt spécifiques de l'espèce dont ils proviennent. En réalité, il semble que chacun des antigènes naturels soit un mosaïque de composés chimiques dont chacun est un antigène spécifique.

II. — On accorde aussi un pouvoir antigénique à certains corps qui sont peut-être des matières protéiques mais sur la nature desquels nous sommes encore incertains. Telles sont les toxines microbiennes dont la mieux connue, la toxine diphtérique, a paru à Roux et Yersin de nature nucléoprotéique. Telles sont aussi les diastases, car Morgenroth puis Javilliers ont montré qu'inoculées à des animaux, elles faisaient apparaître dans leur sérum des antidiastases spécifiques. Huguenencq leur attribue aussi une constitution protéique. Il existe d'ailleurs entre les toxines et les diastases de nombreuses ressemblances que nous ne pouvons exposer ici.

III. — Pour beaucoup d'auteurs, l'anticorps dériverait de l'antigène et d'un constituant normal de notre sérum ou de certains de nos tissus (Hertzfeld,

Klinger, Boissevin, Sdrasomysloff, Koshomine, Vles et Reiss). L'un et l'autre se précipiteraient parce qu'ils présentent dans leur micelle un groupement commun, de même que l'ovalbumine et le sérum quininé se précipitent (Vles et Reiss). La formation et l'action de l'anticorps seraient donc un phénomène purement chimique dont on pourrait observer l'analogue *in vitro*.

L'antigène et l'anticorps précipités ensemble ne seraient jamais comparables à deux réactifs se neutralisant par combinaison, comme on l'avait imaginé selon les théories d'Erlich et selon celles d'Arrhenius et Massen, mais il faudrait les comparer à deux colorants fixés sur le même tissu (Bordet) dont les effets se conjuguent bien qu'ils gardent leur nature propre.

Les anticorps produits par un même antigène seraient beaucoup moins variés qu'on ne l'a supposé longtemps. C'est ainsi que l'agglutinine, la précipitine et la sensibilisatrice, produites par un même antigène qui est un corps microbien, seraient pour beaucoup d'auteurs un seul et même anticorps. Cette opinion a assez de crédit pour que M. Delezenne formulât oralement, dans son cours à l'Institut Pasteur, que sensibilisatrice et agglutinine sont probablement identiques et que les opsonines sont des agglutinines à effets atténués.

Il apparaît évident après ces considérations que les corps de b. Ducrey constituent des antigènes au moins au même titre que n'importe quelle matière protéique. Le bacille ne secrète pas de toxines et ne se

répand pas dans l'organisme. Cependant il est certain que chez le malade même une partie de sa substance se répand et joue le rôle d'antigène. Nous trouvons dans le sérum du malade une agglutinine. Nous y trouvons une sensibilisatrice, peu importe que ce soit le même anticorps que l'agglutinine ou non. Bref, le b. Ducrey fait apparaître chez le malade tous les anticorps désirables que nous puissions déceler, et si ces anticorps sont immunisants, il paraît rationnel d'employer contre le chancre mou un traitement vaccinothérapique ou sérothérapique.

Le premier essai de vaccination préventive contre le chancre mou peut être attribué à Thieberge, Ravaut et Le Sourd (1905). Ces auteurs inoculèrent des singes à la paupière supérieure et après 3 inoculations au même niveau, l'animal leur parut présenter une certaine immunité locale. Reensteerna s'inocule lui-même au niveau de l'avant-bras gauche deux chancres mous à partir du pus chancrelleux d'un singe. Il se refit dans la même région, une semaine après, trois inoculations dans le voisinage des deux premières et ne réalisa que deux pustules bénignes à longue incubation. Trois semaines après, alors que les deux premiers chancres évoluaient encore, une sixième inoculation pratiquée dans la même région ne lui donna aucun résultat. Une septième inoculation pratiquée un mois après la sixième lui donna un nouveau chancre mou. Dans ces expériences il apparaissait que l'on puisse observer une certaine immunité temporaire

dans la région où viennent d'être pratiquées plusieurs inoculations.

On a essayé de faire mieux. Reensteerna a utilisé une émulsion de 400 millions de corps microbiens par cc. en milieu phéniqué à 0,6 % et vieille de six mois. Il a essayé de vacciner avec elle deux indigènes tunisiens de bonne volonté et un singe. Après sa tentative, le singe ne se montra nullement vacciné et présenta un chancre mou après inoculation du b. Ducrey. L'un des indigènes présenta quatre chancres mais tous bénins. L'autre ne réagit pas à l'inoculation du bacille virulent.

En 1924, Rivalier a utilisé comme vaccin une émulsion dense de bacilles tués par chauffage prolongé à 45°. Il a fait à un singe 3 injections de 1 cc., la deuxième 4 jours après la première, et la troisième 5 jours après la deuxième. Le singe résista ensuite à une inoculation du b. Ducrey. Malheureusement l'expérience est unique.

On voit qu'il n'existe pas de procédé permettant de conférer d'une façon certaine une immunité préventive vis-à-vis du chancre mou. Il y a seulement des observations qui plaident en faveur d'une telle possibilité, encore semblerait-il s'agir d'une immunité fugace et exclusivement régionale. En outre, il faut tenir compte de ce fait que, en dehors de toute immunité, il y a des sujets chez lesquels l'inoculation échoue, des porteurs de chancres mous, par exemple, qui résistent à une autoinoculation.

On ne pouvait utiliser contre le chancre mou les

anticorps d'un sujet immunisé. C'est en s'adressant à un animal insensible au chancre mou, à un béliet, que Peterseen prépara un sérum très riche en sensibilisatrice antichancrelleuse. Diluée au 1/1.500^e, ce sérum donnait encore une réaction de déviation du complément. Si une immunité peut être obtenue par l'action des anticorps que fait apparaître le b. Ducrey, peut-être peut-on la demander à ce sérum.

Reensterne a essayé de l'appliquer en thérapeutique. C'est lui qui l'a fait connaître, c'est sous son nom que ce sérum est en général connu, bien que dans sa propre publication, il en attribue la préparation à Peterseen. Il s'est aperçu qu'il était nécessaire de renforcer son action choquante par l'addition de substances protéiques non spécifiques, substances fébrigènes, selon l'expression qu'il employa pour indiquer leur fonction. Comme substance fébrigène, il a choisi en dernier lieu une émulsion de b. typhiques morts.

Ce sérum est employé à raison d'une seule piqûre sous-cutanée de 10 cc. Si le malade a un bubon non fistulisé, Reensterne conseille de l'inciser au préalable parce que, selon lui, les anticorps peuvent être inactifs contre les corps microbiens protégés par des masses trop denses de pus. L'injection produit un choc violent et une élévation thermique entre 39 et 40°. Elle est suivie, d'après lui, d'une amélioration considérable et en général d'une guérison très rapide. Si cette guérison tarde on fait une deuxième injection 5 jours après non sans avoir au préalable désensibilisé le malade par une injection de 1/2 cc. On peut au

besoin faire une troisième injection dans les mêmes conditions. Reensteerna annonce avoir obtenu de la sorte 147 guérisons sur 153 essais et cela sans jamais avoir fait plus de trois inoculations. Il s'agirait donc d'une médication très efficace. Toutefois, si on voulait la généraliser, faudrait-il prévoir le cas où après une première inoculation qui a produit un choc violent, le malade se refuserait à une deuxième inoculation jugée utile par le médecin. Almkwist, de Stockholm, confirme la grande efficacité de ce traitement.

Le sérum antichancrelleux n'a jamais été utilisé en France, du moins n'existe-t-il aucune publication française à son sujet. En dehors des pays scandinaves nous trouvons seulement une communication de Silva Araujo dans les archives brésiliennes de médecine en 1922. L'auteur publie seulement l'observation d'un cas où il essaya avec succès ce sérum.

Au point biologique nous remarquerons qu'il s'agit du sérum d'un animal dont on ne peut dire qu'on l'a immunisé puisqu'il n'était déjà pas sensible au chancre mou. La seule base théorique de son emploi est la présence en grande abondance d'une sensibilisatrice décelable *in vitro*.

En fait, ce sérum agit. Il agit certainement en partie par choc. On sait que la protéinothérapie a été utilisée avec succès contre le chancre mou par différents auteurs (Berndt, Kaznelson, Kattaneo, Lorenzo Marini, L.-M. Bonnet, Reboul). Le sérum qui fait monter la température aux environs de 40° doit avoir lui aussi une action thérapeutique due au choc qu'il pro-

voque. Il semble probable cependant, en raison de l'ampleur du succès annoncé par les auteurs scandinaves, qu'à son action choquante il joint une action spécifique.

La vaccinothérapie du chancre mou a été entreprise pour la première fois en 1913 par Tetsuta Ito. La tentative fut reprise par Stumpke, Cruveilhier, enfin par Nicolle et Duran.

En octobre 1924, Nicolle et Durand publièrent dans les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis les premières observations de l'emploi en injections intra-veineuses d'un vaccin thérapeutique antistreptobacillaire qu'ils avaient préparé. Ce vaccin est une émulsion dans l'eau physiologique. La numération des germes y est impossible, car le *b. Ducrey* se présente toujours là sous forme de chaînettes qui s'intriquent les unes dans les autres et forment des pelotons où il est impossible de compter les germes. On étalonne ces émulsions indirectement. Nicolle et Durand ont employé une émulsion optiquement équivalente à une émulsion de 450 millions de germes typhiques par cc. A l'émulsion on ajoutait 2 % de phénol et le tout était conservé à la glacière et dans l'obscurité.

Leur vaccin a été employé dans les hôpitaux civils et militaires de Tunis par les docteurs Conseil, Jamain, Ramery, Poirson. En 1925, on a commencé à le fabriquer en France où ses premiers essais furent publiés par MM. Dubreuilh et Broustet. Tous ces auteurs annoncèrent le plus grand succès.

C'est maintenant un médicament d'usage courant.

Selon la technique de M^r Gougerot, on fait deux injections par semaine, trois si le cas est particulièrement grave. On commence par 1 cc. et on monte progressivement à 2, 3, 4, 5 cc. La première injection est suivie d'un choc. Une à trois heures après l'injection le malade a des frissons, sa température monte aux environs de 39 ou 40° et met douze heures environ à revenir à la normale. La même injection répétée plusieurs fois donnerait des réactions de moins en moins violentes, mais on recherche ces réactions et c'est pourquoi on augmente progressivement les doses. Après 6 injections on fait encore un traitement d'autres piqûres qui constituent un traitement de consolidation et on fait ainsi en tout 6 à 12 injections.

On dispose là d'un traitement très désagréable mais efficace et précieux dans les complications du chancre mou.

On peut se poser cette question intéressante au point de vue thérapeutique comme au point de vue purement biologique : ce vaccin agit-il par l'action antigène des corps bacillaires ou agit-il simplement par choc.

Nous manquons de renseignements là-dessus. Dans la thèse de Canal (Paris, 1926), nous trouvons une discussion à ce sujet. L'auteur constate que depuis les premières publications l'efficacité de ce vaccin aurait varié et déchu. D'où peuvent venir ces variations? Il lui paraît que le terrain est une moyenne invariable dans toutes les statistiques. Les différences ne peuvent résulter que du vaccin et il émet des hypothèses sur

les différences possibles entre les vaccins commerciaux d'aujourd'hui et ceux fabriqués par Nicolle et Duran. En tous cas, l'effet choquant du vaccin a toujours été le même, et si nos vaccins sont moins actifs c'est, dit-il, que leur action spécifique est moindre, excellente preuve que cette action existe.

On pourrait chercher des arguments pour ou contre cette action dans l'augmentation du taux de sensibilisatrice antichancrelleuse sous l'influence de la vaccinothérapie et la corrélation qui peut exister entre cette augmentation et l'effet thérapeutique observé. Tessier, Reilly et Rivallier, dans trois numéros successifs du journal de physiologie et pathologie générale, en 1927, ont publié des travaux de cet ordre sous le titre de « Pathogénie de l'infection chancrelleuse », mais ils ne se sont pas servi du Dmelcos. Les auteurs ont préparé un antigène spécial : la stréptobacilline. Cet antigène est capable de servir pour une intradermoréaction ou pour une réaction de déviation du complément. Administré à un animal, il peut le tuer, mais il peut aussi, dans des conditions convenables, provoquer l'apparition dans son sérum d'une sensibilisatrice antichancrelleuse. Administré à un homme, il provoque une réaction surtout vive chez le sujet sensibilisé. Par voie intramusculaire, il donne une réaction fébrile très précoce et très brève suivie chez le porteur de chancre mou et chez celui-là seulement une deuxième réaction maxima entre la 24^e et 30^e heure. Par des inoculations répétées espacées de 4 ou 5 jours, les auteurs désensibilisent le sujet auquel ils

procurent des chocs de plus en plus bénins, tandis que le taux de sensibilisatrice anti-Ducrey augmente dans son sérum, mais ils n'observent aucune action thérapeutique manifeste de cette façon. Par des inoculations répétées plus lentement, ils observent une augmentation du taux de la sensibilisatrice et un effet thérapeutique. Cet effet est d'autant plus accusé que le malade était plus sensibilisé au début du traitement; cependant ils conseillent de débiter par des doses d'autant plus faibles que cette sensibilisation est plus grande. Le processus de guérison commence pour une certaine élévation du taux de la sensibilisatrice, mais précède la désensibilisation. Il faut alors arrêter le traitement, disent-ils, et un traitement de consolidation serait fâcheux. En résumé, au fur et à mesure que le taux de la sensibilisatrice dans le sérum du sujet augmente, celui-ci passe successivement par les phases suivantes : sensibilisation, immunité(?), désensibilisation sans immunité.

Nous n'avons les moyens de discuter le travail de ces auteurs, qui malheureusement ne comporte d'essais que sur un très petit nombre de sujets. Disons seulement que leurs résultats viennent confirmer l'opinion qui avait déjà en sa faveur les résultats de la sérothérapie et ceux annoncés au début de l'emploi de la vaccinothérapie. Il est probable en effet que le b. Ducrey provoque la formation d'anticorps qui ont une certaine efficacité dans la défense de l'organisme contre lui. Sur la vaccination préventive, la sérothé-

rapie spécifique, ou la vaccinothérapie spécifique, nous n'avons que des données difficiles à interpréter, mais il est permis de dire que ces opérations paraissent possibles et ont même probablement été déjà réalisées dans une certaine mesure, sans qu'il soit possible de donner une opinion plus précise.

CHAPITRE III

IMMUNISATION LOCALE CONTRE LE CHANCRE MOU

Il peut y avoir des anticorps sans immunité véritable (dans la tuberculose, par exemple), et d'après M. Besredka, le contraire est également possible. Aussi, tandis que l'étude des anticorps fournit à beaucoup d'auteurs leur voie dans l'étude de l'immunité, d'autres auteurs, à la suite de Besredka, considèrent que le phénomène est essentiellement local. Il y aurait pour une affection donnée certains tissus sensibles seulement. Ce sont ces tissus qu'il s'agit d'immuniser, cette immunité peut être obtenue sans qu'on observe la présence d'anticorps dans la circulation générale, et la vaccination locale est le meilleur moyen de l'obtenir.

HABABOU SALA remarque que le chancre mou est une affection très localisée, le bacille se développe entre la couche de Malpighi et le tissu cellulaire sous-cutané,

et il lui apparaît nettement qu'il y a un tissu sensible. Il a essayé de réaliser contre le b. Ducrey, un vaccin local analogue par exemple à celui qui peut être employé dans les affections staphylocciques.

Ayant pu cultiver le b. Ducrey sur bouillon simple il utilise le filtrat de sa culture. Le filtrat vaccin doit être appliqué en abondance sur le chancre mou préalablement nettoyé à l'eau bouillie. S'il y a un bubon on ponctionne celui-ci, on y injecte du vaccin puis on lui applique un pansement imbibé de ce vaccin. Le pansement doit être refait tous les jours. L'autre nous présente 7 observations, qui ne représentent pas celles de tous les cas ainsi traités, d'autres cas faisant l'objet de communications diverses. Le malade ne souffrirait d'aucune réaction et le résultat thérapeutique serait bon. Les chancres ont donné des résultats variables, mais il y aurait eu une guérison en trois jours. Les bubons diminuent dès le premier pansement, deviennent indolore et leur pus prend un aspect séreux. En quatre pansements, nous dit-il, un bubon est guéri.

Tout différent dans son principe est le vaccin qu'on préparé JAUSION et DIOT.

Ceux-ci ontensemencé du pus chancrelleux sur gelose à l'œuf, puis ils ont repiqué en bouillon chacune des diverses sortes de colonies qu'ils ont obtenues. Ayant isolé et cultivé les divers microbes présents dans le pus chancrelleux, staphylocoques, sheptocoques et corynébactéries. Ils ont laissé chacun de leur ballon dix jours à l'étuve à 37°. Ensuite ils les ont filtrés, les ont mélangés et ont obtenu un bouillon vac-

cin polyvalent correspondant aux divers microbes qu'ils avaient isolés. Par la suite, pour préparer à nouveau leur vaccin ils ont mélangé des stocks filtrats. Ce vaccin a été appliqué soit directement sur le chancre, soit dans le bubon, après ponction de celui-ci, en injections locales. Ils ont essayé en premier lieu cette médication sur six malades et ont obtenu six résultats favorables sans avoir le désagrément de provoquer aucun choc.

Ce qui est remarquable c'est que parmi les divers microbes contre lesquels est préparé ce vaccin, le b. Ducrey ne figure pas. Quand on fait en effet une culture du pus chancrelleux et qu'on laisse pousser les divers microbes banaux qui s'y rencontrent le b. Ducrey est étouffé très rapidement par la concurrence de ceux-ci. Même sur des milieux où il peut cultiver, le b. Ducrey demande pour être isolé des précautions spéciales qui n'ont pas été observées ici, dont nous reparlerons plus loin. Pourtant ce vaccin a donné à ces auteurs des résultats favorables. Fournier le considère comme supérieur à celui d'Hababou Sala, et supérieur à des préparations amicrobiennes qu'il a employé dans le but de provoquer une protéinothérapie locale.

Gougerot Peyre et Basset ont employé contre le chancre mou le mélange de plusieurs bactériophages polyvalents. Cet essai dont nous reparlerons à un autre chapitre nous oblige cependant à rappeler ici que d'après certains, toute suspension de bactério-

phage est en même temps un vaccin puisqu'elle contient le lysat des microbes contre lesquels ont été préparés les bactériophages, à rappeler que c'est même là le motif de discussions entre d'Herelle et Besredka dont nous dirons quelques mots plus loin. Un mélange de bactériophage polyvalent, utilisé dans le but de provoquer la bactériophagie, réaliserait en même temps un vaccin polymicrobien non spécifique, analogue à celui de Jansion et Diot.

CHAPITRE IV

LE BACTERIOPHAGE

Après la vaccinothérapie générale, la vaccinothérapie locale et la sérothérapie, il restait une méditation biologique à essayer : l'emploi d'un bactériophage. C'est là-dessus qu'ont porté nos efforts.

Une brève monographie sur le bactériophage, et un court exposé de ce qui a été fait là-dessus jusqu'à présent, doivent précéder l'exposé de nos expériences.

I. — *Le phénomène de bactériophagie*

On fait remonter la découverte du bactériophage à d'Herelle (1917). Certains en attribuent pourtant la paternité à Twort (1915).

En 1915, le bactériologiste anglais Twort découvrit dans le filtrat d'une dilution de pulpes vaccinales la propriété de lyser le staphylocoque. Le milieu lysé,

filtré puis ensemencé dans une nouvelle culture de staphylocoques, le lysait à nouveau. Le phénomène est indéfiniment transmissible. L'agent de cette lyse transmissible n'est certainement pas le virus vaccinal, et Twort ne se prononça pas sur sa nature.

En 1917, d'Herelle observa le phénomène de lyse transmissible vis-à-vis de bacilles dysentériques dans le filtrat de selles dysentériques. C'est à l'agent, encore mystérieux de ce phénomène qu'il donna le nom de bactériophage.

Le phénomène observé deux ans auparavant par Twort était-il un phénomène de bactériophagie ? D'Herelle ne le croit pas, car l'aspect des plages lytiques qu'obtient Twort lui paraît différent de celui qu'il obtient avec des bactériophages antistaphylocociques. Si parfois les deux phénomènes paraissent superposables, c'est, dit-il, parce qu'il peut se trouver par hasard du bactériophage antistaphylococcique dans des pulpes vaccinales, mais Twort a mis en évidence autre chose. La thèse de l'identité absolue des deux phénomènes n'en est pas moins soutenue avec fougue depuis dix ans par M. Gratia, de Bruxelles, qui expose longuement ses arguments dans les *Annales de l'Institut Pasteur* (premier numéro de 1931).

Quoiqu'il en soit, d'Herelle ne s'arrêta pas à l'observation d'une lyse transmissible et élargit considérablement la portée de sa découverte. Il montra que la présence et l'abondance du bactériophage antidy-sentérique était en corrélation absolue avec l'imminence de la guérison. C'est à lui que semblait due

celle-ci. Il montra également que par repiquage successif de bactériophage voyait s'accroître sa propriété de lyser les b. dysentériques. Il lui apparut qu'il avait affaire à un microbe possédant deux caractères essentiels des êtres vivants, celui de se multiplier et celui de s'adapter. Son adaptation à la lyse du b. dysentérique devait se réaliser *in vivo* comme il l'observait *in vitro*, c'est ce qui amenait la guérison. En cultivant le bactériophage avec d'autres bacilles que celui de Shija, il réussit parfois à l'entraîner contre eux. Il réalisa ainsi d'autres souches antidysentériques, antistaphylococciques, antidyphiques, antiparatyphiques, antipyocianiques, antipesteuses, anticholériques.

Le bactériophage ensemencé sur la culture d'un microbe sensible donne des colonies qui se présentent sous forme de petites taches sans culture apparente dont l'accroissement s'arrête bientôt, mais qui se multiplient et ne sont jamais recouvertes par la culture. D'Herelle admet que chaque plage est issue d'un corpuscule unique, de sorte qu'en reensemencant cette plage et en comptant le nombre de plages qu'il obtient, il sait le nombre de corpuscules qu'il avait auparavant et peut ainsi déterminer indirectement le diamètre du bactériophage. Ce diamètre serait de 20 à 30 angström.

La lyse ne dépend pas de la quantité de bactériophage ensemencée. Une certaine dose est nécessaire et suffisante pour déclencher le phénomène dans toute son intensité. Elle varie avec le microbe envisagé. Certains bactériophages sont spécifiques pour une

seule souche microbienne, d'autres pour plusieurs ou même pour toutes les souches de cette espèce, enfin certains sont même actifs contre plusieurs espèces. La lyse ne s'observe qu'avec des bactéries vivantes et normales, elle est arrêtée par exemple par des antiseptiques. Elle peut être précédée d'une prolifération exagérée des bactéries ou de phénomènes d'agglutination.

Par passage successif sur des bactéries sensibles, le bactériophage vit accroître sa virulence vis-à-vis de cette souche ou de cette espèce. Parfois, cependant, une culture après s'être éclaircie se trouble à nouveau et nous offre alors à considérer des bactéries devenues résistantes. Dans la grande majorité des cas les bactéries sont alors devenues résistantes à toutes espèces de bactériophage.

Ensemencé avec un microbe sensible, le bactériophage le laisse pousser quelques heures, puis le *lyse*.

II. — *Nature du bactériophage*

Tels sont les phénomènes de lyse transmissible ou d'adaptation que personne n'a contestés. Mais sur leur interprétation des discussions étaient possibles.

D'abord qu'était ce bactériophage ?

Il n'était pas possible d'admettre qu'il fut un principe lytique analogue aux diastases des métazoaires et indépendants des microbes. Cette théorie aboutissait à une absurdité. En effet dans cette hypothèse le

taux du principe actif décroissait en progression géométrique à chaque repiquage. Au sixième repiquage, d'après d'Herelle, il restait une quantité inférieure à un électron, c'est-à-dire irréaliste.

Que le bactériophage fut un être vivant, c'est ce dont ne douta pas d'Herelle. Cette hypothèse lui parut la seule capable d'expliquer la lyse transmissible et les adaptations du facteur lytique.

Cependant, le bactériophage ne se multipliant pas dans les milieux reconnus sans microbes, il fallait admettre que cet être fut obligatoirement parasite des bactéries.

En outre, en raison de ses dimensions, il fallait admettre qu'un simple micelle puisse être vivant, affirmation d'importance comme on le voit au point de vue de la biologie générale. M. Borel a établi l'an dernier un procédé de coloration qui, sur des lames très propres, lui a permis de déceler à la limite de la visibilité le virus de la péripneumonie des bovidés. Par cette technique, dans le filtrat de cultures bactériophagées, il fait voir des granulations également à la limite de la visibilité et qu'il prétend être des bactériophages. Il nous les a montrées l'an dernier à son cours de l'Institut Pasteur. Ce procédé a pour effet d'entourer le corpuscule de plusieurs couches de colorants et de réaliser ainsi une masse de dimensions très supérieures à celle du corpuscule. De la sorte nous ne sommes pas du tout renseignés sur la forme de celui-ci, une simple coloration était impossible. En effet un corpuscule de 20 à 30 angström de

diamètre, serait au-dessous de toute visibilité possible ayant des dimensions inférieures à l'amplitude des plus petites vibrations qui constituent les rayons visibles.

La thèse de d'Herelle contient encore une hypothèse d'une importance considérable en biologie générale. Il ne faut pas que le mot entraînement, si souvent employé à propos du bactériophage qui s'adapte à de nouveaux microbes, fasse illusion. Il ne s'agit pas de l'entraînement individuel d'un corpuscule. Quand cette adaptation se produit il s'agit d'un caractère qui se développe en plusieurs cultures, c'est-à-dire en plusieurs générations s'il s'agit d'un être vivant. Cette adaptation serait donc un phénomène de transformisme, et d'un transformisme réversible dont l'idée est nouvelle. Pour d'Herelle le bactériophage est un être chez lequel l'assimilation n'a pas la perfection qu'elle a chez les espèces plus élevées qui maintiennent toujours identiques à elle-même la composition de leur substance. En raison de cette imperfection le bactériophage, sans pouvoir être divisé en plusieurs espèces définies et stables, posséderait une plasticité que nous ne retrouvons chez les bactéries et encore moins chez les êtres pluricellulaires.

Ferment indépendant du microbe ou parasite de celui-ci, il n'y avait pas que deux hypothèses possibles. GILDEMEISTER en émit une troisième moins riche en conclusions originales que celle de d'Herelle et à laquelle se rallie aujourd'hui Bordet : le bactéριο-

phage était une diastase bactériolysante libérée par la bactériolyse. En expliquant ainsi parfaitement la lyse transmissible et d'Herelle lui-même invoque une explication analogue dans le phénomène de Twort.

Que l'on adopta la thèse de d'Herelle ou celle de Gildemeister, la question même au point de vue purement médical était intéressante. Nous ferons remarquer que dans l'hypothèse de Gildemeister, le bactériophage ne pourrait pas suffire à expliquer une guérison car, pour qu'il apparaisse il faudrait qu'il y ait déjà un peu de bactériolyse. En outre d'Herelle suppose le bactériophage contagieux, et admet ainsi des contagions de guérisons qui expliqueraient la cessation d'épidémies. C'est là une hypothèse inconcevable dans l'hypothèse de Gildemeister.

Les diastases présentent un optimum à leur action, variable selon le pH, et un pH optimum, variable selon la température. La bactériophagie possible pour des pH compris entre 6,5 et 8, et des températures comprises entre 6 et 42 (optima 37) ressemble en cela aussi bien à un phénomène vital qu'à un phénomène diastasique. Les diastases sont définitivement inactivées, on peut dire tuées, par la chaleur, c'est-à-dire qu'au-dessus d'une certaine température elles sont tuées d'autant plus vite que la température est plus élevée, comme les microorganismes. Même à la température ordinaire, une diastase, comme une culture de microorganisme, meurt à la longue. Elles sont absorbées par le précipité que nous donne l'alcool en milieu de culture liquide et en général par tous les

précipités. Nous retrouvons cette propriété chez le bactériophage, mais elle appartient à tout ce qui est à l'état de micelle. Nous ne voyons donc pas jusqu'ici de critère absolue à sa nature vivante ou diastasique. Sa résistance aux antiseptiques ne nous offre pas non plus de critères sûrs. Insensibles à certains antiseptiques qui tuent les bactéries, tels que Fn Na ou $\text{NO}^3 \text{Ag}$, il est sensible à d'autres antiseptiques tels que $\text{CH}^2\text{OH} - \text{CH OH} - \text{CH}^2\text{OH}$ qui le détruit en huit jours. L'alcool à 95 le détruit en deux jours, et les sels de quinine en quelques heures à la concentration de 1/1.000. En cela il ressemble plutôt à un être vivant bien que les diastases ne soient pas complètement insensibles aux antiseptiques. M. d'Herelle écrit que sa résistance est intermédiaire entre celle des bactéries et celles de leurs spores.

La théorie diastasique n'est pas incompatible avec l'adaptation du bactériophage. Si une diastase bactériophage a une spécificité chimique rigoureuse qui ne constitue qu'une spécificité biologique relative, elle peut quelquefois lyser quelques corps microbiens dont la composition est peu éloignée de celle contre laquelle elle est spécialisée. Ce faisant elle libère un peu de diastases spécifiques. Et de la sorte on peut en quelques repiquages observer l'apparence d'un phénomène d'adaptation.

Pour résoudre le problème, on s'est attaché ces derniers temps à l'origine du bactériophage. Une diastase est sécrétée par un être vivant, tandis que celui-ci est produit par un être semblable à lui. La question se

pose donc de savoir si le bactériophage peut être sécrété par un microbe dans un milieu où l'on n'a pas encore de bactériophage.

Un des bons arguments en faveur de la nature vivante du bactériophage est que l'on ne l'observe pas sur des bactéries non infectées au préalable. A la vérité, il existe un certain nombre de cas de bactériophagie en apparence spontanée, mais dans tous ces cas d'Herelle répond qu'on a séparé un microbe et son bactériophage vivant jusque-là en symbiose. D'autre part, la répartition même des plages de bactériophages donne l'impression non d'un processus d'extension mais d'un processus de multiplication qui suppose un être vivant.

Récemment (C. R. Soc. Biol. Santiago, 24-10-30), M. et Mme Wollman ont essayé d'obtenir une bactériophagie spontanée. Ils ont utilisé ce fait que les bactériographes issus de microbes sporulés ne résistent pas mieux que les autres bactériophages à la chaleur, donc résistent moins bien que les spores. En chauffant 5 minutes à 100° ou 15 minutes à 85, une culture sporulée de *b. subtilis*, ils la débarrassent ainsi des bactériophages qu'elle pouvait contenir. Dans ces conditions ils ne sont jamais parvenus à observer ensuite de bactériophagie et ils sont obligés de relater ces faits contraires à l'opinion qu'il voulait soutenir. Ils ajoutent en note que Dooren de Young (Versaml. Von Akad. Weteusch, 1930), plus heureux qu'eux, aurait observé une bactériophagie spontanée du *b. mégatérium* cultivé) à partir d'une souche chauffée à 100°.

Il y aurait intérêt à connaître la technique employée par Dooren de Young car l'importance des résultats, s'ils doivent être retenus, serait considérable tant pour la médecine que pour toutes les branches de la biologie.

III. — *Effets dus in vivo au bactériophage*

En faveur du rôle du bactériophage dans la guérison, d'Herelle allègue ses effets thérapeutiques. Nous ne pouvons mentionner ici, sans sortir de notre cadre, les nombreuses affections pour lesquelles le bactériophage a été employé avec succès depuis la dysenterie bacillaire et le chloré jusqu'aux affections cutanées pour lesquelles MM. Gougerot et Peyre l'emploient en traitement externe. On peut toujours se demander le mécanisme de cet effet thérapeutique. Pour d'Herelle le bactériophage administré agit directement par son action lytique. Pour M. Bordet la lyse libère des antigènes et provoque la formation d'anticorps dont le rôle serait capital. Enfin pour Mr. Besredka, l'action thérapeutique du bactériophage n'est pas due même indirectement à son action lytique. Il remarque que le bouillon bactériophage contient des corps microbiants lysés et constitue une variété de vaccin analogue à ceux qu'il fabrique. Il n'a pas d'autre action *in vivo*, dit-il, que celle d'un vaccin. « Notons, écrit-il dans *Antivirusthérapie*, que l'antivirus obtenu au moyen du bactériophage est aussi actif chauffé à 100°

que non chauffé, ce qui montre, soit dit en passant, que l'effet exercé par le bactériophage ne réside pas en lui-même mais dans les produits d'autolyse auxquels il donne naissance. » (1).

Nous ne pouvons pas dans cet exposé préliminaire entrer dans le détail des faits cliniques par lesquels s'opposent et se comparent les traitements par l'antivirus ou par le bactériophage, traitement que certains comme M. Rosenthal, se proposent de combiner.

Encore en faveur de la thèse de d'Herelle sur le rôle du bactériophage dans la guérison, il y a un autre fait que l'action thérapeutique de celui-ci. Les bactéries résistantes au bactériophage n'ont rien perdu de leur pouvoir antigénique, et on ne voit pas que l'organisme produise moins d'anticorps contre eux que contre les bactéries sensibles. Pourtant elles sont hypervirulentes. Le colibacille par exemple ne deviendrait pathogène qu'une fois immunisé contre le bactériophage intestinal, ce qui ne l'empêcherait pas d'être sensible à un bactériophage mieux entraîné.

Ce sont là des faits du plus haut intérêt. Cependant, avant d'en tirer une conclusion, il convient de remarquer que le microbe résistant au bactériophage est résistant également à au moins l'une des autres causes biologiques de destruction, à la phagocytose.

On le voit, il nous est impossible de conclure, quoique ce sont dans des questions aussi controversées par les éminents microbiologistes que la nature du bacté-

(1) Antivirus therapie, p. 8.

riophage et son mode d'action thérapeutique. Ce qu'il nous faut retenir c'est l'aspect du phénomène et ses conditions, que nous devons à chaque instant avoir présent à l'esprit dans nos recherches ; c'est aussi l'effet thérapeutique du bactériophage, souvent observé, et qui, quel que soit son mécanisme, justifie toute tentative de préparation de bactériophages.

CHAPITRE V

BACTERIOPHAGE ET BACILLE DE DUCREY

Dans la très vaste littérature concernant le bactériophage, nous ne trouvons pas une ligne relatant d'une façon certaine son adaptation au b. Ducrey.

Il n'est pas facile en effet de tenter la préparation d'un bactériophage antichancrelleux. D'Herelle nous a enseigné comme on doit essayer d'adapter un bactériophage à la lyse de microbes non sensibles. Il faut partir d'une culture combinée. Soit par exemple à adapter au colibacille du bactériophage anti-Shiga. On ensemence du bouillon avec du Shiga, du coli et du bactériophage anti-Shiga. On a une culture coli et bactériophage. On la filtre sur bougie de porcelaine et on inocule le filtrat sur une autre culture combinée Shiga coli en bouillon. Après plusieurs passages analogues, on peut observer la lyse du colibacille. Ce qui vient ici compliquer notre tâche c'est que le b. Ducrey est difficile à cultiver et que nous savons qu'il est impossible de l'avoir en culture combinée avec un

des microbes sensibles au bactériophage. Sa culture serait sûrement étouffée par la concurrence de l'autre microbe. Aussi si nous voulons tenter cette réalisation serons-nous obligés de modifier la technique usuelle. Du Ducrey, un bactériophage et un microbe sensible seront ensemencés et le filtrat reensemencé avec du Ducrey et du microbe sensible. La combinaison du Ducrey et des microbes sensibles pourrait, peut-être, être remplacé par du pus chancrelleux avec du bactériophage.

En 1930, dans le laboratoire de M. Peyre, Basset essaya d'étudier la bactériophagie du b. Ducrey. N'ayant pas réussi à cultiver ce microbe dans un milieu assez limpide pour que la lyse y soit visible il porta ses efforts dans une autre voie.

Il eut recours aux stocks bactériophages fabriqués dans le laboratoire de M. d'Herelle : bacté pyo, rhino et intestiphages, et employa un mélange de ces préparations *in vivo*, appliquées sur le chancre après lavage ou dans le bubon après ponction.

Parlant des microbes d'infection secondaires auxquels semble s'adresser ce mélange, il écrit : « Ces germes semblent classiquement avoir un rôle secondaire. De même il est classique d'admettre que la riche flore microbienne du chancre, en dehors des cas de phagedenisme, ne joue aucun rôle morbide. S'il était encore besoin de démontrer ce dernier point, les remarquables expériences relatées par Hababou Sala dans sa thèse auraient à notre sens tranché la difficulté. Nous étions frappés cependant des résultats

assez favorables qu'auraient obtenu avec des filtrats vaccins non spécifiques, Janselme, Jausion et Diot dans des bubons, Jausion et Diot dans le chancre mou. Nous espérons surtout un début d'adaptation *in vivo* du bactériophage. »

Basset a traité ainsi sept malades et obtenu trois résultats favorables. Il discute et rejette l'hypothèse d'une protéinothérapie locale. Il ne discute pas celle d'une vaccinothérapie qui serait pourtant à envisager. « Il serait intéressant, écrit-il, de pouvoir préciser le mode d'action de notre thérapeutique. Nous avons déjà dit que lorsque nous avons essayé pour la première fois notre traitement, nous espérons pouvoir récupérer la souche ainsi éduquée et tenter son adaptation *in vitro*. Nous n'avons pu le faire pour les raisons sus-indiquées. Cet échec nous condamne à ne pas pouvoir donner la preuve biologique du processus thérapeutique. »

Nous avons évité les difficultés auxquelles s'est heurté Basset, en employant le bouillon sérum extrait globulaire préparé à l'aide du sérum et de l'extrait globulaire vendus par l'Institut Pasteur. Les cultures y sont peu abondantes, mais le milieu y est parfaitement limpide et il eut été facile d'y suivre un phénomène de lyse.

CHAPITRE VI

RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR L'ACTION DU BACTERIOPHAGE SUR LE PUS CHANCREL- LEUX « IN VITRO »

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Cette première expérience a été faite sur un pus de bubon chancrelleux récemment fistulisé, à l'aide de plusieurs bactériophages mélangés dans le produit nommé batépyophage.

Premier jour. — Le premier jour a été employé à la préparation des milieux. Des tubes de gelose dont un glucosé tournesolé et un glucosé au rouge neutre ont été décapuchonnés, puis placés obliquement dans une casserole d'eau où ils émergeaient. Les capuchons étaient également dans l'eau.

Nous avons chauffé jusqu'à ébullition. Les tubes de gelose fondue et les tubes de bouillon ont alors été

placés sur un porte-tube et additionnés aseptiquement chacun de vingt gouttes de sérum et de 10 gouttes d'extrait globulaire acheté à l'Institut Pasteur, puis refermés et capuchonnés aseptiquement.

Les milieux gelosés encore parfaitement fluides ont été couchés obliquement sur la table, soulevés près du capuchon par une baguette et se sont solidifiés ainsi.

Le tout a été porté à l'étuve pour vérifier la stérilité.

Deuxième jour. — Vers 11 heures nous avons examiné nos tubes portés à l'étuve la veille vers 17 heures. Ils se montrent parfaitement stériles.

Pour plus de sécurité nous reportons à l'étuve les bouillons dans lesquels une culture très peu abondante aurait pu être invisible.

Troisième jour. — Nous retrouvons nos bouillons vers 9 heures parfaitement clairs. Nous croyons pouvoir considérer tous nos milieux comme stériles.

Nous trouvons un malade présentant un bubon chancrelleux fistulisé depuis peu. A la pipette nous aspirons un peu de pus avec toute l'aseptie possible, refermons la pipette à la flamme et allons ensemençer ce pus sur gelose extrait globulaire glucosé tournesolé avec 10 gouttes de pactépyophage.

Quatrième jour. — Le tube de gelose glucosé tournesolé paraît stérile. Il n'a pas rougi et macroscopiquement ne montre pas de colonies visibles. Cependant

pour nous assurer de sa stérilité nous grattons sa surface avec le fil à ensemencements et procédons au même geste que si nous avions une culture que nous voulions poursuivre dans un tube de bouillon. Les deux tubes sont reportés à l'étuve.

Cinquième jour. — Après 30 heures de séjour à l'étuve le tube de gelose glucosé tournesolé a rougi et le tube de bouillon est troublé.

Les microbes poussés dans le tube de bouillon se présentent sur la lame comme des cocci Gram positifs groupés en amas et dans lesquels on peut reconnaître des staphyloccoques.

Les microbes poussés sur milieu solide se présentent comme des cocci, les uns Gram positif, en amas, les autres Gram négatif, groupés de façon variable. Nous sommes tentés de supposer qu'il s'agit uniquement de staphyloccoques que nous aurions mal colorés. Mais nous retrouvons les mêmes aspects sur plusieurs lames. Peut-être il y a-t-il un autre microbe Gram négatif qui s'est développé sur gelose plus tardivement que le staphyloccoque ou que nous aurions introduit sur la gelose après avoir ensemencé le bouillon.

La culture en bouillon ou culture A est repiquée sur un autre tube de bouillon. La culture en gelose est repiquée sur gelose glucosée au rouge neutre à l'extrait globulaire. Le tout est porté à l'étuve. Il importe en effet de savoir si ces microbes ont été introduits par nous à la suite d'une faute ou s'ils proviennent

réellement du pus chancrelleux et ont été retardés dans leur développement par le bactériophage. Nous avons donc besoin de les repiquer et de poursuivre leur identification qui nous dira peut-être laquelle de ces deux hypothèses est vraisemblable.

Sixième jour. — Après 18 heures d'étuve environ nous examinons le deuxième passage de la souche. Celle-ci présente toujours le même aspect, c'est une souche de staphylocoques.

Quant au tube de gelose il est coloré d'un rouge vif. En examinant séparément les microbes poussés sur la partie solide et les microbes poussés sur l'eau de condensation, nous constatons que les premiers se présentent comme des cocci presque tous Gram négatif tandis que les seconds sont aussi polymorphes que dans les cultures de la veille. Il semble donc que nous ayons sur la gelose un mélange de staphylocoques et de microbes Gram négatif dont la réalité ne puisse plus faire de doute. Nous ensemençons séparément sur bouillon l'eau de condensation de notre tube et des colories prélevées sur la partie solide. Ce sont les souches B et C que nous portons à l'étuve.

Septième jour. — La différenciation se confirme. En B nous avons une culture de staphylocoques, et en C une culture de Cocci presque Gram négatif. La séparation paraît suffisante pour distinguer les deux espèces.

Etude de la culture A. — Le staphylocoque étant un microbe banal, il paraît possible qu'il ait été introduit par faute de technique, mais dans ce cas il est étonnant que la souche A ait cultivé dans un milieu en certains points duquel il y avait du bactériophage. Une lyse devait se poursuivre. Par contre si cette souche provient du pus chancrelleux et si elle est une culture secondaire nous devons nous attendre à cette résistance. Nous ensemençons la culture A, d'une part sur du bouillon avec 10 gouttes de bactériophage, d'autre part sur du bouillon sans bactériophage et enfin sur gelose.

Après 24 heures d'étuve la culture a réussi et paraît abondante sur les trois milieux. Le trouble paraît optiquement le même dans les deux tubes de bouillon. La souche A est donc caractérisée par une immunité totale vis-à-vis du bactériophage. D'ailleurs, les tubes sont restés plusieurs semaines sur la table et n'ont jamais lysé.

Pour étudier sa virulence, nous en faisons à partir de la culture sur gelose une émulsion contenant un milliard de corps microbiens dans 1 cc³ d'eau physiologique. Cette émulsion a été faite en se servant d'un étalon opacimétrique que nous avons préparé l'an dernier à l'Institut Pasteur. Nous l'inoculons sur la peau de la face interne de la cuisse droite à un cobaye femelle de 479 grammes. L'inoculation est pratiquée le 22 novembre.

Deux jours après inoculation le cobaye ne pèse plus que 300 grammes. Il présente une contracture

douloureuse de tout son membre postérieur droit et au niveau de l'inoculation on décèle un abcès à la palpation.

Le jour suivant l'abcès est fistulisé et le cobaye pèse 335 grammes. Ses mouvements sont libres. Nous voyons ensuite son poids monter ensuite de jour en jour à 345, 355 grammes, tandis que la plaie cicatrise, puis monte lentement ensuite. Il pèse 434 gr. le 13 février, et 465 gr. le 17 mars.

Sans doute une inoculation intracardiaque nous aurait certainement donné des phénomènes généraux dont l'évolution plus ou moins rapide aurait pu servir de mesure à la virulence du microbe. Mais il n'échappera à personne que cette mesure eut été tout à fait illusoire. Par contre nous aurions pu affirmer l'hypervirulence de cette source si elle n'avait donné aucune réaction locale, et son hypervirulence si nous avions observé des phénomènes septicémiques ou une localisation à distance. Ici aucune conclusion formelle n'est permise sur la virulence de notre souche, cependant elle paraît hypervirulente s'il y a relation de cause à effet contre l'inoculation et la déficience prolongée de notre cobaye.

La résistance de cette souche A au bactériophage nous suffit pour dire que ces staphylocoques n'ont probablement pas été introduits par nous. Nous laisserons ici de côté la question de sa virulence dont nous reparlerons un peu plus loin, mais qui n'a rien pour nous étonner.

Nous croyons pouvoir conclure que, dans cette expérience les bactériophages se sont trouvés impuissants à empêcher le développement de certains microbes concurrents du b. Ducrey, en particulier le développement des staphylocoques contre lesquels ils devaient être spécialisés.

On peut se demander si le fait n'est pas une simple coïncidence, si ce n'est pas une variété particulière de staphylocoques qui s'est trouvé par hasard dans ce pus ou si ce n'est pas notre souche de bactériophage qui était mauvaise. Si le fait se répète à chaque expérience, nous pourrions nous demander s'il existe dans le pus chancrelleux quelque chose qui protège le staphylocoque contre son bactériophage.

DEUXIÈME ET TROISIÈME EXPÉRIENCE

Nous prenons deux tubes de bouillon.

L'un estensemencé avec une goutte de pus qui s'écoule sous le prépuce tuméfié d'un malade atteint de chancre mou. L'autre estensemencé, avec le fil àensemencement, à partir de l'érosion qu'un malade présente sur le foureau, et où on retrouve le b. de Ducrey à l'examen microscopique; le milieu infectant a été ici recherché avec le fil dans les parois de la lésion.

Chaque tube est additionné de 10 gouttes de notre bactériophage.

Cette fois encore la culture est retardée. Après 48 heures d'étuve, nous trouvons les 2 tubes légèrement troublés avec un dépôt pulvérulent à la partie inférieure. A l'examen microscopique, une culture présente des staphylocoques et des sarcines, et l'autre des staphylocoques avec des corynebactéries ayant l'aspect de diphtériques : b. Gram +, groupés en paquet d'épingle. Tous ces microbes proviennent certainement de la peau du malade.

En résumé les trois tubes, avec du bactériophage, c'est-à-dire avec un stock bactériophage polyvalent, à action staphyphage, ont donné des cultures tardives contenant des staphylocoques.

D'Herelle nous enseigne (*Le Bactériophage et son comportement*, p. 165), qu'avec des bactériophages dont la virulence n'est pas à son maximum, on doit observer une culture secondaire. C'est certainement ce qui s'est produit. Mais le délai dans lequel nous avons observé cette culture est remarquablement court.

Cela ne nous encourage pas à l'emploi du bactériophage contre des chancres mous, puisque non seulement rien ne nous permet de supposer qu'il agisse sur le b. de Ducrey, mais nous n'avons même pas obtenu sur des microbes saprophytes l'effet que nous pouvions espérer.

CHAPITRE VII

RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR L'ACTION DU BACTERIOPHAGE SUR UNE CULTURE DE B. DE DUCREY

Nous avons d'abord fait au laboratoire de la Faculté, à l'Hôpital St-Louis, service de M. le professeur Gougerot, trois expériences d'orientation :

1° Nous avons pris 2 tubes A' et B', de bouillon à l'extrait globulaire, et nous les avonsensemencés chacun avec des b. de Ducrey d'une souche provenant de l'Institut Pasteur. Chaque tube B' a reçu 10 gouttes de bactérhinophage.

Après 48 heures d'étuve, nous observons une culture seulement dans les tubes A'. Les microbes obtenus se reconnaissent facilement comme des b. de Ducrey. Le bactérhinophage semble donc assez bien choisi pour être utilisé contre le b. de Ducrey.

2° Nous repiquons la souce A' sur 6 tubes A₃, A₄, A₅, B₃, B₄, B₅. Chaque tube B' reçoit 5 gouttes de bactérhinophage. Cette fois, il y a culture dans les

6 tubes après 48 heures d'étuve. La dose de bacterhinophage était-elle insuffisante? C'est possible.

3° A'₃ est repiqué sur 6 tubes A'₆, A'₇, A'₈, B'₆, B'₇, B'₈. L'ensemencement est fait avec un fil. 20 gouttes de bacterhinophage sont ajoutées à chaque tube B'. Après 24 heures d'étuve, il y a culture dans les 6 tubes. Mais au microscope nous constatons que nous avons affaire à des cocci Gram négatif, isolés ou groupés en diplocoques, et que cet aspect se retrouve dans les tubes 3, 4, 5.

D'Herelle enseigne bien que des microbes entraînés contre un bactériophage se modifient souvent et passent à l'état de cocci alors qu'ils n'avaient pas cette forme. D'autre part il est curieux qu'au 2^e passage nos cocci aient demandé 48 heures pour pousser et qu'au 3^e, 24 heures leur aient suffi. Cependant il est plus prudent de considérer que nous sommes en présence d'une souillure et de ne retenir que la première expérience.

Notre expérimentation fut poursuivie à la Faculté de Médecine, au laboratoire de M. Peyre. Nous tenons à le remercier ici pour toute sa complaisance, ainsi que M. Pitres.

Avec une autre souche de b. de Ducrey et avec une souche de staphylocoques provenant de l'Institut Pasteur, nous avons ensemencé 9 tubes de bouillon sérum extrait globulaire. Ci-joint le tableau des 9 ensemencements pratiqués et des résultats observés après 50 heures d'étuve à 33° :

I. — Souche de staphylocoques : staphylocoques et diplocoques Gram+.

II. — B. Ducrey : b. Ducrey.

III. — Bactestaphyphage : 0.

IV. — Souche + bactestaphyphage : cocci Gram + groupés pour la plupart en diplocoques.

V. — Ducrey + bactestaphyphage (III gttes) : Ducrey.

VI. — Ducrey + bactestaphyphage (III gttes) : Ducrey.

VII. — Ducrey + bactestaphyphage (XX gttes) : 0.

VIII. — Ducrey + bactestaphyphage (XX gttes) : 0.

IX. — Ducrey + souche + bactestaphyphage (XX gttes) : même aspect qu'en IV.

En somme, nous retrouvons l'inhibition du b. de Ducrey par de fortes doses de bactestaphyphage, et peut-être ce bactériophage, présent dans le mélange nommé bacterliénophage, était-il cause de l'inhibition observée tout à l'heure.

Nous reprenons plusieurs fois lesensemencements suivants :

- a) Souche;
- b) B. Ducrey;
- c) Bactestaphyphage;
- d) Souche + bactestaphyphage (III gttes);
- e) Ducrey + souche + bactestaphyphage (III gttes);
- f) Ducrey + souche + bactestaphyphage (III gttes).

Une lyse partielle dans les cultures combinées *e* et *f* nous aurait donné un filtrat utilisable pour tenter l'entraînement du bactériophage contre le b. de Ducrey.

Mais nous ne l'avons jamais observée. Au contraire, au bout de 7 ou 8 heures d'étuve, nous avons observé en *e* et *f* un louche plus prononcé qu'en *d*, comme si le Ducrey protégeait les staphylocoques.

Mais rien ne paraissait nettement, car après 24 h. d'étuve, nous avons toujours en *a*, *d*, *e*, *f*, les diplocoques Gram positifs, observés déjà en I, IV et IX, formant une culture abondante.

Sur le conseil de M. Pitres, nous avons abandonné l'usage de cette souche de staphylocoques, certainement impure, et donnant des résultats trop difficiles à interpréter.

Une autre souche, provenant du laboratoire, nous fut fournie par lui. Elle était également impure, contenant, avec des staphylocoques, des bâtonnets Gram négatif. Mais la différence était assez grande entre les deux espèces pour qu'aucune confusion ne fut pos-

sible. Deux expériences ont été faites avec elle sur bouillon nutritif simple.

	1 ^{re} exp. (18 h. d'étuve)	2 ^e exp. (24 h. d'étuve)
Souche.....	staphylocoques α b. Gram négatif.....	staphylocoques
B. Ducrey.....	o	o
Bactestaphyphage.....	o	o
Souche + bactestaphyphage (III gttes).....	batonnets Gram négatif.....	batonnets Gram négatif et quelques cocci Gram +, qui morphologiquement paraissent des enterocoques.
Souche + Ducrey + bactestaphyphage.....	batonnets Gram négatif α enterocoques.....	staphylocoques.
Souche + Ducrey + bactestaphyphage.....	staphylocoques.....	»

La présence de formes enterocoques cesse d'être surprenante quand on pense que, d'après d'Herelle, toutes sortes de microbes, à commencer par des staphylocoques, prennent très souvent cette forme sous l'influence de bactériophage. Nous n'avons toujours pas la lyse désirable en culture combinée. Ce qui semble même se dégager de ces expériences, c'est que le b. de Ducrey a protégé le staphylocoque.

Avec une nouvelle culture de staphylocoques, provenant de l'Institut Pasteur, nous pratiquons les ensemencements suivants et observons les résultats indiqués en regard, après 48 h. d'étuve.

Staphylocoques : staphylocoques.

Staphylocoques + bactestaphyphage (III gttes) : lyse incomplète, mais très prononcée.

Staphylocoque + Ducrey (souche V) + bactestaphyphage (III gttes) : lyse légère seulement.

La protection observée tout à l'heure se retrouve, cependant il y a une certaine lyse.

La culture staphylocoques + bactestaphyphage est filtrée sur bougie de porcelaine, et donne un filtrat F_1 . La culture suivante donne de même un filtrat F_2 .

Nous pratiquons alors les ensemencements suivants :

Sur gelose staphylocoques : culture abondante.

Sur gelose staphylocoques + bactestaphyphage d'une ampoule : culture moins abondante.

Sur gelose staphylocoques + F_1 : quelques rares colonies sur les bords.

Sur gelose staphylocoques + F_2 : quelques rares colonies sur les bords.

Le filtrat F_2 donne lieu à des essais analogues avec notre culture de b. Ducrey, mais notre culture a perdu sa vitalité, et les 3 tubes ne nous présentent qu'un trouble infime difficile à interpréter, égal dans les 3 tubes, sans microbe visible à l'examen microscopique.

Nous renonçons pour le moment à recommencer notre tentative, que nous espérons reprendre plus tard dans de meilleures conditions.

Dans nos expériences, le b. de Ducrey a semblé 3 fois sur 3 protéger le staphylocoque contre le sta-

phyphage, ce qui correspond bien à ce que nous avons observé dans le pus chancrelleux.

Le nombre de nos expériences est trop petit pour éliminer l'hypothèse d'un simple hasard. Cependant nous avons essayé de retrouver cette protection dans l'expérience suivante :

Nous prenons 9 tubes de gelose inclinée, et déposons sur chaque tube en un point un peu de culture de staphylocoque.

En 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, nous ajoutons 1 goutte de bactestaphyphage en ce point.

En 5, 6, 7, 8, 9, nous ajoutons encore au même point quelques gouttes (III gttes) de la culture V (Ducrey + staphyphage). En 7, 8, 9, nous augmentons la dose en ajoutant encore X gouttes.

Après 72 h. d'étuve, il y a culture en 1, 2, 7, 8, 9, comme si la culture V exerçait une action protectrice à dose suffisante. Mais dans les 15 jours qui suivirent, à la température du laboratoire, il y eut lyse partout sauf en 1 et 2.

CHAPITRE IX

DISCUSSION

Rapprochons un peu les faits que nous avons relatés de ce qui se passe en général quand un bactériophage est en présence de plusieurs microbes dans une même culture.

Trois cas sont à considérer :

A. — On a un bactériophage polyvalent en présence de plusieurs espèces de microbes sensibles à son action.

D'Herelle nous donne la réponse p. 157 : « La bactériophagie se produit, mais toutes les bactéries ne sont pas attaquées avec la même intensité. Elle est totale pour les bactéries vis-à-vis desquelles la virulence est maxima ou très forte, elle n'est que partielle pour les autres et d'autant moins accentuée que la virulence est faible vis-à-vis d'elles. En somme, que l'on fasse agir le bactériophage séparément sur les diverses bactéries sensibles, ou qu'on le fasse agir sur un mélange de ces bactéries, l'attaque se fait de la même manière ».

B. — On a un bactériophage en présence d'une es-

pèce sensible à son action et d'une espèce vis-à-vis de laquelle il n'est pas adapté.

Ex.: staphylo, coli et bactériophage anticoli.

En ce cas, il y a lyse des microbes sensibles. Il apparaît d'ailleurs qu'il y a tous les intermédiaires entre le premier cas et le deuxième cas. D'Herelle nous donne des exemples de cette lyse. Ainsi nous lisons à la page 341 : « Je partage en deux parties une émulsion de staphylocoques (125.10 par cc.). La première est inoculée avec 0,05 de colibactériophage, la deuxième est inoculée également avec 0 cc. 05 de ce même bactériophage et j'ajoute une émulsion de bacilles coli sensibles. Les deux tubes sont placés dans le bain-marie réglé à 45°. Après trois heures et demie l'opacité de la deuxième émulsion est environ la moitié de celle de la première ».

Tout cela ne comporte aucune difficulté à comprendre. On pouvait le supposer *a priori*.

C. — Existe-t-il des cas où un microbe en protège un autre contre son bactériophage?

D'Herelle écrit que les microbes immunisés contre un bactériophage produisent des antivirulines protégeant les microbes sensibles. C'est ainsi que s'expliqueraient les cultures secondaires.

Mais il ne nous donne pas d'exemple de cultures secondaires combinées de microbes d'espèce différente inégalement sensible à un même bactériophage. Il est possible que les individus d'une espèce peu sen-

sible, en s'immunisant, protègent l'autre espèce, mais nous n'en savons rien.

D'autre part, Born, dans le *Centralblatt für Bakteriologie*, t. CXVI, 1930, p. 284, rapporte une série d'expériences qui l'amènent à dire que les bactéries mortes protègent les bactéries vivantes contre le bactériophage dont l'action est retardée, atténuée ou supprimée, celui-ci serait absorbé par certains produits que libèrent les bactéries tuées par d'autres agents que le bactériophage. Or, dans nos cultures combinées, il est bien vraisemblable que les b. de Ducrey soient morts rapidement.

Il y a là des faits encore peu étudiés. Nous ne pouvons tirer encore aucune conclusion de nos observations, d'ailleurs trop peu nombreuses pour éliminer l'hypothèse qu'elle soit due au hasard. Contentons-nous de les mentionner.

CONCLUSIONS

PREMIÈRE PARTIE

I. — Le chancre fait apparaître des anticorps dans l'organisme. On peut aussi faire apparaître ces anticorps ou accroître leur taux par injection de bacilles tués (Petersen, Roensteerna) ou d'extraits de corps bacillaires (Teissier et Rivalier). Les tentatives de vaccinations préventives, les essais de sérothérapie ou de vaccinothérapie curative ont donc une certaine base théorique bien que le pouvoir antigène et le pouvoir immunisant puissent être des choses différentes (Besredka).

II. — La vaccination préventive n'a pas été réalisée de façon certaine. Dans quelques expériences, il semble que l'on ait obtenu une immunité locale. Malheureusement, celle-ci a été très fugace, d'une durée d'une quinzaine de jours seulement.

III. — La sérothérapie et la vaccinothérapie curatives semblent se montrer efficaces, dans les cas avec bubon surtout. Nous ignorons la part qui revient là à une valeur curative spécifique et ce qu'il faut attribuer au simple choc.

IV. — L'emploi de vaccins locaux, basés sur la théorie que Besredka a donné de l'immunité, aboutit dans quelques cas à des résultats favorables (Hababou Sala). Ces derniers ne paraissent pas une simple protéinothérapie locale, cependant il faut reconnaître

que des résultats aussi heureux ont été obtenus avec le vaccin de Jausion et Diot qui n'est pas spécifique et qui est préparé avec des microbes saprophytes.

DEUXIÈME PARTIE

I. — Dans le traitement du chancre mou on se heurte à des difficultés techniques si on tente la préparation du bactériophage vis-à-vis du bacille de Ducrey.

II. — La culture du bacille de Ducrey est extrêmement délicate à obtenir, surtout en milieu clair et limpide, milieu indispensable pour la préparation d'un bactériophage sans parler des nécessités physico-chimiques auxquelles il faut satisfaire pour avoir la culture d'un bactériophage.

III. — Au cours de recherches personnelles, nous avons remarqué qu'un bactériophage polyvalent paraissait ralentir la culture du bacille de Ducrey, bien que son action de microbiolyse habituelle n'ait pas été constatée. Son adaptation devrait être tentée, nous semble-t-il, dans de nouvelles recherches.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,

GOUGEROT.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,

BALTHAZARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY

VACCINOTHERAPIE

Chancre mou expérimental chez le singe et le lapin (Roensterna, Acta dermatologien vener., 1921, vol. II).

Vaccinothérapie du chancre mou (Cuveilhier. Soc. biol., 25, II, 22).

Vaccinothérapie dans le traitement du chancre mou et de son bubon (L.-M. Bonnet, Lyon Médical, 25, IV, 22).

Recherches sur le b. de Ducrey (Roensterna, Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, décembre 1923).

Essais de vaccinothérapie du chancre mou (Roensterna, Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, décembre 1923).

— (Nicolle et Durand, Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, octobre 1924).

14 observations de chancres mous, simples ou compliqués, traités par des inoculations intraveineuses de vaccin antistreptobacillaire (Conseil, Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 1924).

Traitement des chancres mous par le vaccin (Du-

breuil et Broustet. Bulletin de la Société française de dermatologie et syphiligraphie, 1925, n° 4).

Vaccinothérapie du bubon vénérien et du chancre simple (Garrye, Paris Médical, 14 mars 1925).

— (Leclercq. Bruxelles Médical, n° 59, 1925).

— (Lortat Jacob et Poumeau-Delile. Paris-Médical, 26 juin 1926).

— (Léon Tixier et Bize. Société méd. des hôpitaux de Paris, 16 juillet 1926).

Pathogénie de l'infection chancreuse (Teisner, Reilly et Rivalier. Journal de Physiologie et de Pathologie générale, 1927).

VACCINOTHERAPIE LOCALE

Nouvelles recherches sur le b. de Ducrey (Hababou Sala. Réunion dermatologique de Strasbourg, 8 mars 1923).

Vaccinothérapie locale du chancre mou (Hababou Sala. Thèse, 1925).

Essai de vaccinothérapie locale du chancre mou (Jausion et Diot. Bulletin de la Société française de Dermatologie et Syphiligraphie, 2 avril 1925. — Janselme, Jausion et Diot, Bulletin et Mémoire de la Société de Dermatologie et Syphiligraphie, 14 juin 1925).

Le bubon chancrelleux, traitement par injection intra-ganglionnaire d'un vaccin polymicrobien (Pautich, thèse 1926).

Traitement du chancre mou et des bubons chancrelleux par des vaccins spécifiques (Lortat Jacob et Legrain, Congrès de Dermatologie de Bruxelles, juillet 1926).

BACTERIOPHAGE

Livres et fascicules

Le bactériophage et son comportement (D'Herelle).

Le bactériophage, ses applications à la dermatologie, par d'Hérelle, conférence recueillie par le docteur Ed. Peyre. Archives dermato-syphiligraphiques, t. II, fasc. III.

Antivirusthérapie, par Besredka.

Communications

Pour ne pas alourdir à l'excès la liste des communications relatives aux bactériophages, nous croyons ne pas devoir citer celles parues avant 1926. On peut trouver la liste de toutes les communications dans la Bibliographie citée à la fin du livre de d'Herelle, et leur contenu est relaté au cours de ce livre. Elles sont au nombre de 690, ce qui nous oblige à ne pas les énumérer. Nous citons seulement les publications faites depuis la parution de ce livre.

Pour les dernières communications, voir leur compte rendu analytique et critique dans le Bulletin de l'Institut Pasteur, 2^e numéro de février 1931.

